



Ble 1

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **01134242 A**(43) Date of publication of application: **28.08.89**

(51) Int. Cl.

**G01N 27/30****G01N 27/46**(21) Application number: **82292322**(22) Date of filing: **19.11.87**(71) Applicant: **MATSUSHITA ELECTRIC IND CO LTD**

(72) Inventor:  
**KAWAGURI MARIKO**  
**FUJITA MAYUMI**  
**NANKAI SHIRO**  
**IJIMA TAKASHI**  
**SUETSUGU SACHIKO**  
**KOMATSU KIYOMI**  
**MORIGAKI KENICHI**  
**KOBAYASHI SHIGEO**

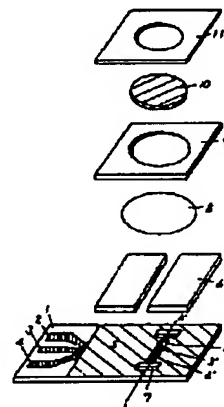
(54) **BIOSENSOR**

COPYRIGHT: (C)1989,JPO&amp;Japio

(57) Abstract:

**PURPOSE:** To supply a specific component in a fine amount of a sample to an electrode system part easily and speedily with high accuracy and to perform quantitative determination by uniting an electrode system with a porous body and adjusting their distance.

**CONSTITUTION:** The electrode system consisting of a counter electrode 2, a measuring electrode 3, and a reference electrode 4 is formed on an insulating substrate 1, and then an insulating layer 5 is formed covering the electrode system except parts 2'W4' which operate electrochemically. A cellulose water-absorptive high polymer layer is formed on the surfaces of those electrode systems 2'W4' and a groove is formed with both-sided adhesive tapes 6; and a polycarbonate porous film 8 is adhered on a bored holding frame 9 made of resin and fixed by the both-sided adhesive tapes 6 so that the electrode systems 2'W4' are covered. Further, a porous body 10 is placed at the hole part of the holding frame 9, a cover 11 made of resin having a hole part having a diameter smaller than the porous body is adhered, and the entire body is integrated.



## ⑫ 公開特許公報(A) 平1-134242

⑤ Int. Cl.<sup>4</sup>

識別記号

庁内整理番号

④ 公開 平成1年(1989)5月26日

G 01 N 27/30  
27/46J-7363-2G  
M-7363-2G

審査請求 未請求 発明の数 1 (全5頁)

⑬ 発明の名称 バイオセンサ

⑭ 特 願 昭62-292322

⑮ 出 願 昭62(1987)11月19日

⑯ 発 明 者	河 栗 真 理 子	大阪府門真市大字門真1006番地	松下電器産業株式会社内
⑰ 発 明 者	藤 田 真 由 美	大阪府門真市大字門真1006番地	松下電器産業株式会社内
⑱ 発 明 者	南 海 史 朗	大阪府門真市大字門真1006番地	松下電器産業株式会社内
㉑ 発 明 者	飯 島 孝 志	大阪府門真市大字門真1006番地	松下電器産業株式会社内
㉓ 発 明 者	末 次 佐 知 子	大阪府門真市大字門真1006番地	松下電器産業株式会社内
㉕ 発 明 者	小 松 き よ み	大阪府門真市大字門真1006番地	松下電器産業株式会社内
㉗ 発 明 者	森 垣 健 一	大阪府門真市大字門真1006番地	松下電器産業株式会社内
㉙ 発 明 者	小 林 茂 雄	大阪府門真市大字門真1006番地	松下電器産業株式会社内
㉚ 出 願 人	松下電器産業株式会社	大阪府門真市大字門真1006番地	
㉛ 代 理 人	弁理士 中尾 敏 男	外 1 名	

## 明 細 書

## 1、発明の名称

バイオセンサ

## 2、特許請求の範囲

(1) 少なくとも測定極と対極からなる電極系を設けた絶縁性基板と、前記電極系を覆う様に多孔体膜を備え、さらにその上に多孔体を設けてあり、酵素と電子受容体と試料液の反応に際しての物質濃度変化を前記電極系で電気化学的に検知し試料液中の基質濃度を測定するバイオセンサであって、前記絶縁性基板と多孔体膜との距離を電極系の周辺の部位は電極系と多孔体膜との距離よりも大きくしたことを特徴とするバイオセンサ。

(2) 電極系の少なくとも一方の端の基板上に孔を有することを特徴とする特許請求の範囲第1項記載のバイオセンサ。

## 3、発明の詳細な説明

## 産業上の利用分野

本発明は、種々の微量の生体試料中の特定成分について、試料液を希釈することなく迅速かつ簡

易に定量することのできるバイオセンサに関する。

## 従来の技術

従来血液などの生体試料中の特定成分について、試料液の希釈や攪拌などの操作を行なうことなく高精度に定量する方式としては、第5図に示す様なバイオセンサが提案されている(例えば、特開昭59-166852号公報)。このバイオセンサは、絶縁性基板14にリード15、16をそれぞれ有する白金などからなる測定極17および対極18を埋設し、これらの電極系の露出部分を酸化還元酵素および電子受容体を担持した多孔体19で覆ったものである。試料液を多孔体上へ滴下すると、試料液に多孔体中の酸化還元酵素と電子受容体が溶解し、試料液中の基質との間で酵素反応が進行し、電子受容体が還元される。酵素反応終了後、この還元された電子受容体の酸化電流値から試料液中の基質濃度を求めることができる。

## 発明が解決しようとする問題点

この様な従来の構成では、多孔体については、測定極に取り替えることにより簡易に測定に供す

ることができるが、電極系については洗浄等の操作が必要である。さらに微量のサンプルで測定するためには小型化が必要となるが埋設電極では小型化にも限度がある。

本発明はこれらの点について種々検討した結果、電極系と多孔体を一体化し、その距離を調節することにより、微量の試料中の特定成分を極めて容易に迅速かつ高精度に電極系部へ供給して定量することが可能なディスポーザブルタイプのバイオセンサを提供するものである。

問題点を解決するための手段

本発明は上記問題点を解決するため、絶縁性基板に少なくとも測定極と対極からなる電極系を設け、酵素と電子受容体と試料液の反応に際しての物質濃度変化を電気化学的に前記電極系で検知し、試料液中の基質濃度を測定するバイオセンサにおいて、基板上の電極系と多孔体膜との距離を、電極系以外の部位では離してセットし、多孔体と一体化したものである。

作 用

(各1mm)を残す様に絶縁性ペーストを前記同様印刷し、加熱処理して絶縁層5を形成する。電極系の外側に1mm×3mmの長方形の穴7をあける。この電極系(2',3',4')の表面にセルロース性の吸水性高分子の1種であるCMC(カルボキシメチルセルロース)の水溶液を塗布し45℃で1時間乾燥してCMC層12を形成した。次に第1図に示すように両面接着テープ6により幅2mmの溝を形成し、穴をあけた樹脂製の保持枠9に孔径1mmのポリカーボネート多孔体膜8を接着し、前記電極系2',3',4'を覆う様に両面接着テープ6で固定する。さらに、保持枠9の開孔部に多孔体10を置き、多孔体より小さい径の開孔部を有する樹脂製のカバー11を接着して、全体を一体化する。多孔体10はナイロン不織布に酸化還元酵素としてグルコースオキシダーゼ300μgと電子受容体としてフェリシアン化カリウム1mgをPH 5.5のリン酸緩衝液に溶解した液を含浸し、減圧乾燥して作製したものである。第2図に第1図の基板上に両面接着テープで溝を形成した所の

本発明によれば電極系をも含めたディスポーザブルタイプのバイオセンサを成することができ、試料液を多孔体に添加することにより、極めて容易に基質濃度を測定することができる。

しかも、電極系以外の部位は多孔体膜との距離が大きく試料液が展開しないため微量な液で測定が可能となり、液量が規制できるため安定した応答が得られた。

実 施 例

実施例1

以下、本発明の一実施例について説明する。

バイオセンサの一例として、グルコースセンサについて説明する。第1図はグルコースセンサの一実施例について示したもので構成部分の分解図である。ポリエチレンテラフタレートからなる絶縁性基板1に、スクリーン印刷により導電性カーボンペーストを印刷し、加熱乾燥することにより、対極2、測定極3、参照極4からなる電極系を形成する。次に、電極系を部分的に覆い、各々の電極の電気化学的に作用する部分となる2',3',4'

模式図を、第3図に第1図のA-A'部の断面図を示した。

上記の様に構成したグルコースセンサの多孔体10へ試料液としてグルコース標準液を滴下し、2分後に参照極4'を基準にして測定極3'の電位をアノード方向へ+0.5Vパルス電圧を印加し5秒の電流を測定する。この場合、添加されたグルコース標準液により多孔体に担持されたフェリシアン化カリウムおよびグルコースオキシダーゼが溶解し、酵素反応が行なわれてフェロシアン化カリウムが生成する。そこで、上記のパルス電圧の印加により生成したフェロシアン化カリウムの濃度に基づく酸化電流が得られ、この電流値は基質であるグルコース濃度に対応する。グルコース濃度が700mg/dlまで良好な直線性が得られた。

上記のグルコースセンサに血液サンプルを20μl滴下して2分後の応答を測定した。血液の場合は、血球が温まっているため粘度が高く電極表面に付着して応答が妨害されていたが、孔径1mmのポリカーボネート多孔体膜により血球を通過し、

電極表面にCMCを塗布することでタンパクの吸着を防ぎ、かつ濡れ性が改され、グルコース濃度に対応した応答が得られるようになった。さらに、電極系の両側に穴があいているため、電極系上に反応液が達する場合、反応液が穴の所までくるとす過がとまる。穴がない場合は、時間とともにす過した反応液が溝にひろがっていくため、酵素や電子受容体が充分担持されないと、時間とともに未反応の液もす過され、フェロシアン化カリウムの濃度に変化して応答がばらつくという問題点があったが、穴をあけるとす過量は規制でき、時間に対して安定な応答が得られた、さらに、穴をあけないとす過した液が溝の出口を早く満たして電極系の上に気泡を形成する場合があります、応答を低下させる原因となったが、穴をあけることにより電極系の外側は液がいかないのでも電極系上にす過されるようになり、気泡の形成を防ぐことができた。又す過量が規制できることにより、 $15\mu\text{l}$ という微量のサンプルで充分精度よく応答が得られた。

分後に応答を測定した。実施例1では、添加した血液と多孔体10において酵素反応が行なわれるため、血球が混在して粘度が高く酵素反応が遅くなる場合があったが、酵素層を電極表面付近に設けることにより、ポリカーボネート多孔体膜により血球がす過された状態で反応が行なわれるので、すみやかに反応が行なわれ、す過される液が多くとも $8\mu\text{l}$ ぐらいなので、酵素の担持量も微量で充分であった。さらに、グルコースオキシダーゼとフェリシアン化カリウムを同じ多孔体に担持して保持すると、湿度や光が影響して初期状態を維持できない場合があったが、両者を分離することにより作成が簡易になり、長期間安定に保存ができるようになった。

穴をあけるかわりに、絶縁性の基板を第4図のようにくりぬいて凹部13を設けることにより、段差をつけても同様の効果が得られた。又段差や穴は電極系の片方に設けても気泡が残ることはなく効果があり、又その穴あるいは凹部の形状も長方形に限らず、円形、だ円形としてもよい。

## 実施例2

実施例1と同様に絶縁性基板1に電極系を構成した。前記基板の電極系の外側に $1\times 3\text{mm}$ の長方形の穴7をあけ、電極系をはさむように幅 $2\text{mm}$ の溝を両面接着テープ8で作成した。次に電極の両側の穴7と溝により区切られた電極上に実施例1と同様にCMC層を形成した。さらに、酸化還元酵素としてグルコースオキシダーゼ $50\mu\text{g}$ をリン酸緩衝液(PH 6.0)に溶解して塗布し乾燥した。穴をあけた樹脂製の保持枠9に孔径 $1\mu\text{m}$ のポリカーボネート多孔体膜10を接着し、前記電極系を覆う様に両面接着テープ8で固定する。さらに、保持枠9の開孔部に多孔体10を置き、多孔体より小さい径の開孔部を有する樹脂製のカバー11を接着して全体を一体化する。多孔体10はナイロン不織布に電子受容体としてフェリシアン化カリウム1 $\mu\text{mol}$ をリン酸緩衝液(PH 6.0)に溶解した液を含浸し減圧乾燥して作製したものである。上記の様に構成したグルコースセンサの多孔体10へ、試料液として血液を $20\mu\text{l}$ 滴下し、2

本発明のバイオセンサにおける一体化の方法としては実施例に示した枠体、カバーなどの形や組み合わせに限定されるものではない。又、酸化還元酵素と電子受容体の組み合わせも前記実施例に限定されることはなく、本発明の主旨に合致するものであれば用いることができる。一方、上記実施例においては、電極系として3電極方式の場合について述べたが対極と測定極からなる2電極方式でも測定は可能である。

## 発明の効果

このように本発明のバイオセンサは、絶縁性基板、電極系、多孔体膜および酸化還元酵素と電子受容体を担持した多孔体を一体化することにより、極めて容易に生体試料中の基質濃度を測定することができ、電極系部以外の部位と多孔体膜との距離を広げることにより、反応液を多孔体膜との距離が近い電極系部にのみ限定してす過させるため液量が良好規制でき、微量のサンプル量で安定した応答が得られるようになった。

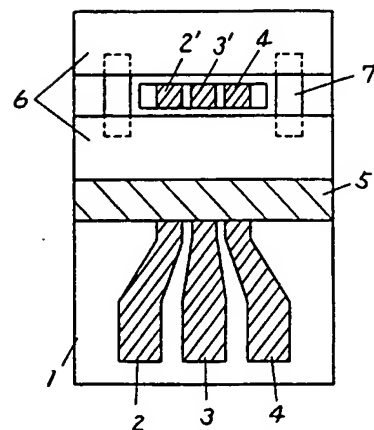
## 4、図面の簡単な説明

第1図は本発明の一実施例であるバイオセンサの分解斜視図、第2図は電極系部の拡大模式図、第3図、第4図はその縦断面図、第5図は従来のバイオセンサの縦断面図である。

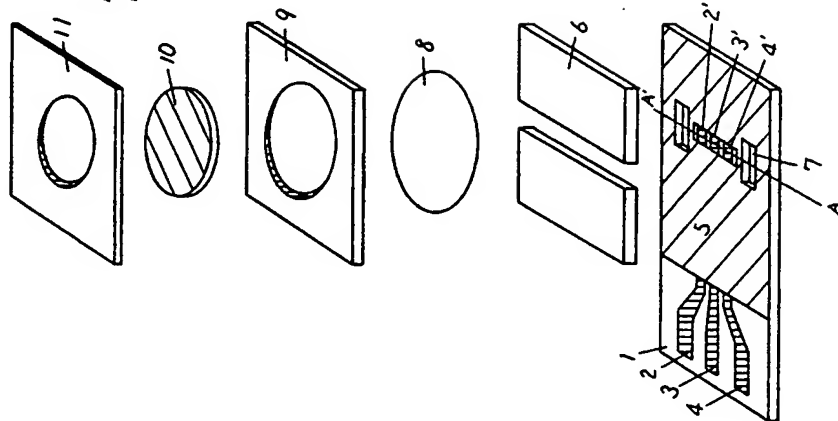
1……絶縁性基板、3……測定極、2……対極、4……参照極、5……絶縁層、6……両面接着テープ、7……穴、8……多孔体膜、9……保持枠、10……多孔体、11……カバー、12……CMC層、13……凹部、14……絶縁性基板、15、16……リード、17……測定極、18……対極、19……多孔体。

代理人の氏名 弁理士 中 尾 敏 男 ほか1名

第 2 図

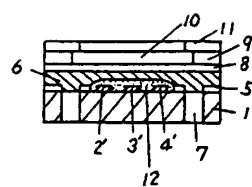


1……絶縁性基板  
2……対極  
3……測定極  
4……参照極  
5……絶縁層  
6……両面接着テープ  
7……穴  
8……多孔体膜  
9……保持枠  
10……多孔体  
11……カバー

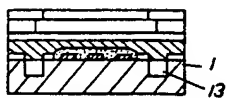


第 1 図

第 3 図



第 4 図



第 5 図

